



(11) Numéro de publication : **0 533 512 A1**

(12)

## DEMANDE DE BREVET EUROPEEN

(21) Numéro de dépôt : **92402215.5**

(51) Int. Cl.<sup>5</sup> : **A23J 3/18, A23L 1/105,  
A23J 1/12**

(22) Date de dépôt : **03.08.92**

(30) Priorité : **16.09.91 FR 9111368**

(43) Date de publication de la demande :  
**24.03.93 Bulletin 93/12**

(84) Etats contractants désignés :  
**AT BE CH DE DK ES FR GB GR IE IT LI LU MC  
NL PT SE**

(71) Demandeur : **AGRO INDUSTRIE  
RECHERCHES ET DEVELOPPEMENTS  
(A.R.D.)  
27/29 rue Châteaubriand  
F-75008 Paris (FR)**

(72) Inventeur : **Pernes-Costa, Sylvie, Résidence  
Saint-Germain  
2 Square du 8 Mai, Appt G 221  
F-60200 Compiègne (FR)  
Inventeur : Thoumy, Véronique  
7, rue des Hauts-Moulins  
F-44800 Saint Herblain (FR)  
Inventeur : Pauwels, Olivier  
52 bis, rue des Capucins  
F-51100 Reims (FR)  
Inventeur : de Baynast, Régis  
35, rue de l'Ermitage  
F-78000 Versailles (FR)**

(74) Mandataire : **Bourgognon, Jean-Marie et al  
Cabinet Flechner 22, Avenue de Friedland  
F-75008 Paris (FR)**

(54) **Produit lipidoprotéique dérivé de la farine de blé, son procédé de préparation et ses applications.**

(57) Il comprend, sur la matière sèche, de 70 à 75 % en poids de matières azotées totales, de 10 à 15 % en poids de lipides, de 4 à 7 % en poids de fibres, de 2 à 5 % en poids de sucres et de 3 à 5 % en poids de cendres, ayant une teneur en glutamine, exprimée en acide glutamique, représentant de 30 à 35 % du poids de tous les acides aminés, et ayant une solubilité ISA d'au moins 60 % et d'au plus 95 % et qui est constante, quel que soit le pH. Industrie agroalimentaire.

**EP 0 533 512 A1**

La présente invention se rapporte aux produits dérivés de la farine de blé, à leurs procédés de préparation et à leurs applications.

Un grand nombre de variétés de blé, à haut rendement, ne sont pas panifiables. On les utilise simplement comme aliment du bétail.

5 Au brevet canadien 1.146.800, on propose de valoriser la farine, notamment de blé non panifiable, par un procédé qui consiste à mélanger de l'eau et de la farine pour former un pâton, à le soumettre à l'action d'une  $\alpha$ -amylase, qui en liquéfie l'amidon de manière à faciliter la séparation ultérieure de ce que ce brevet canadien dénomme "gluten" d'un sirop de sucre.

10 L'invention vise un produit lipidoprotéique dérivé de la farine de blé, qui peut être utilisé comme ingrédient alimentaire permettant notamment d'alléger les produits et comme substitut de la poudre de lait écrémé pour l'alimentation animale, notamment pour les animaux non sevrés à engraisser, alors que les produits d'origine céréalière étaient jusqu'ici absolument impropres à un tel usage.

15 L'invention a donc pour objet un produit lipidoprotéique comprenant, sur la matière sèche, de 70 à 75 % en poids de matières azotées totales, de 8 à 15 % en poids de lipides, de 3 à 7 % en poids de fibres, de 2 à 5 % en poids de sucres et de 3 à 7 % en poids de cendres, ayant une teneur en glutamine, exprimée en acide glutamique, représentant de 25 à 35 % du poids de tous les acides aminés et ayant une solubilité ISA d'au moins 50 % et d'au plus 95 %, cette solubilité ISA étant constante, quel que soit le pH.

Par matières azotées totales, on entend les matières azotées telles qu'elles sont déterminées par le test de Kjeldahl, avec N = 5,7.

20 On détermine les lipides, suivant l'invention, en dosant les matières grasses extraites en utilisant un extracteur Soxhlet en présence d'hexane (5 g de produit pour 250 ml d'hexane) en maintenant une ébullition sous reflux pendant 6 heures. Après évaporation de l'hexane, on définit le taux de lipides par le rapport entre le poids de l'extract sec et le poids de matière sèche totale.

Les fibres sont déterminées par la méthode Fiberzim Kit de chez Novo Nordisk suivante :

25 On effectue tout d'abord un broyage du produit, tel que les particules obtenues soient de taille inférieure à 5 mm. On procède également au séchage des particules.

Dans chaque creuset filtrant, mettre une couche homogène de Célite 545 d'environ 8 mm. Placer les creusets une nuit à 105°C. laisser refroidir au dessiccateur, puis peser.

30 Peser exactement environ 1 g (du produit exempt de matières grasses), dans un erlenmeyer de 250 ml. Ajouter 50 ml de tampon phosphate. Agiter. Couvrir l'erlenmeyer avec une feuille d'aluminium (conserver cette feuille tout au long de l'expérience). Laisser l'erlenmeyer au bain-marie agité à 100°C pendant 15 minutes.

Ajouter 50  $\mu$ l d' $\alpha$ -amylase. Placer l'erlenmeyer au bain-marie agité à 100°C pendant 15 minutes. puis rethermostater l'erlenmeyer à 60°C pendant 15 minutes.

Ajuster le pH à 7,5 avec NaOH 0,275 N.

35 Rethermostater l'erlenmeyer à 60°C pendant 15 minutes et ajouter 50  $\mu$ l de protéase.

Placer au bain-marie agité à 60°C pendant 40 minutes.

Ajuster le pH à 4,5 avec HCl 0,322 N. Puis rethermostater l'erlenmeyer à 60°C pendant 15 minutes.

Ajouter 150  $\mu$ l d'amyloglucosidase. Placer au bain-marie agité à 60°C pendant 40 minutes.

Préchauffer de l'alcool à 95 % à 60°C, et ajouter cet alcool jusqu'à un volume de 200 ml dans l'erlenmeyer.

40 Puis laisser précipiter les fibres à température ambiante pendant 40 minutes.

Placer le creuset filtrant sur une trompe à vide et rincer la Célite 545 avec de l'alcool à 78 % de façon que la Célite forme un lit collant à la surface du creuset. Filtrer sous vide.

Laver le résidu trois fois avec 20 ml d'éthanol à 78 %, deux fois avec 10 ml d'éthanol à 95 % et deux fois avec 10 ml d'acétone.

45 Sécher le creuset contenant l'échantillon, pendant une nuit à 105°C.

Refroidir au dessiccateur et peser.

On obtient ainsi le poids de fibres totales, plus les cendres, plus la matière azotée totale : poids total.

On procède donc au dosage des cendres et de la matière azotée totale.

$$50 \quad \% F = \frac{Mt - \frac{\% N + \% C}{100} * Mt - B}{m} * 100$$

% F : Pourcentage de fibres totales

% N : Pourcentage de matières azotées

% C : Pourcentage de cendres

55 Mt : Poids total

m : Masse de l'échantillon

B : Pourcentage de fibres d'un blanc.

La teneur pondérale des sucres est déterminée en effectuant l'essai suivant. 5 g du produit à doser sont

solubilisés à chaud dans 250 ml d'eau. Le mélange est filtré sur un filtre millipore 0,45 µm puis refiltré sur 0,2 µm. Un échantillon de 40 µl est injecté sur une colonne calcium HP87C (Biorad) sur un système HPLC Waters 410 (réfractomètre). Le débit du solvant (H<sub>2</sub>O.) est de 0,5 ml/minute à 85°C. L'étalonnage préalable permet l'analyse qualitative et quantitative des sucres.

5 La teneur en glutamine et celle des autres acides aminés est déterminée de la manière suivante.

500 mg de l'échantillon à analyser sont soumis à une hydrolyse acide totale (HCl 6N-110°C pendant 24 à 48 heures). Afin de ne pas détruire la méthionine et la cystéine, le produit sera préalablement à l'hydrolyse soumis à une oxydation performique qui transforme la cystéine en acide cystique et la méthionine en méthionine sulfone.

10 L'hydrolysate est filtré sur un filtre millipore 0,2 µm. Un aliquote du filtrat (100 à 200 µl) est dilué dans un tampon, puis analysé par l'analyseur automatique Beckmann.

La solubilité ISA (NSI, soit Nitrogen Soluble index) est déterminée suivant la norme A.O.C.S., Official Method Ba 11-65.

5 g d'échantillon dans 200 ml d'H<sub>2</sub>O (30°C) sont dispersés sous agitation. On centrifuge pendant 10 minutes sous 1500 tours à la minute. On décante et on conserve le surnageant que l'on filtre à travers la lame de verre et on dose la matière azotée totale du surnageant.

$$\% \text{ ISA} = \frac{\% \text{ azote soluble dans l'eau}}{\% \text{ azote total}}$$

Il s'agit là d'une indication de solubilité et de digestibilité en milieu aqueux.

20 Le procédé de préparation produit lipidoprotéique, suivant l'invention, consiste à mettre un intermédiaire lipidoprotéique ayant une teneur en glutamine, exprimée en acide glutamique représentant de 25 à 35 % du poids de tous les acides aminés, ce qui signifie que cet intermédiaire lipidoprotéique provient de la farine de blé, et répondant à l'analyse suivante : de 70 à 75 % en poids de matières azotées totales, de 8 à 15 % en poids de lipides, de 3 à 7 % en poids de fibres, de 2 à 5 % en poids de sucres et de 3 à 7 % en poids de cendres, en contact avec une protéase.

Ce procédé peut s'effectuer sans apport d'eau, qu'il n'est plus nécessaire d'évaporer lors de l'atomisation.

Le procédé complet d'obtention du produit lipidoprotéique suivant l'invention, à partir de la farine de blé, peut comprendre les stades suivants :

30 Le premier stade consiste à mélanger de 0,8 à 10 parties en poids d'eau à 1 partie en poids de farine, jusqu'à obtention d'un pâton.

En général, la farine a une granulométrie de 180 µm, bien qu'on puisse utiliser des farines plus fines, allant par exemple jusqu'à 150 µm ou même 100 µm, et également des farines plus grossières, allant par exemple jusqu'à 300 µm, la granulométrie n'étant pas déterminante dès l'instant qu'un pâton se forme par mélange à l'eau. On obtient en général un pâton en moins de 10 minutes, sous agitation vigoureuse, comme il est habituel pour former un pâton dans la fabrication du pain. La farine utilisée peut être une farine panifiable mais, d'une manière très avantageuse suivant l'invention, ce peut être également une farine non panifiable. On peut effectuer le mélange à la température ambiante mais, d'une manière avantageuse, on préfère mélanger la farine à de l'eau portée à une température de 40 à 90°C et notamment de 50 à 60°C, pour rendre plus économique un stade ultérieur de chauffage. On effectue avantageusement le mélange dans un pulpeur de papeterie muni de moyens d'agitation puissants.

Dès obtention du pâton, on ajoute au contenu du pulpeur une α-amylase, tout en portant le pâton additionné de l'α-amylase à une température d'au moins 60°C et d'au plus 110°C, pendant au moins 30 minutes, l'addition de l'α-amylase étant pratiquée instantanée. Comme α-amylase, on peut utiliser notamment :

45 La Termamyl 120L (120 KNU/g) de Novo Nordisk ou Ban 120L KNU/g de Novo Nordisk ou Canolpha 180L 180 000 U/ml de Biocon ou Fungomyl/800L (800 Fau/g) de Novo Nordisk.

KNU = Kilo Unité α-amylase Novo

Quantité d'enzyme qui dégrade 5,25 g d'amidon par heure, selon la méthode standard Novo.

On utilise une quantité d'α-amylase de 300 grammes à 500 grammes par tonne de farine, ces quantités étant exprimées pour une activité d'α-amylase de 100 KU/g. On règle le pH et la température en fonction des conditions optimales d'activité des enzymes. C'est ainsi, par exemple, que pour la termamyl/120L (Nova Nordisk) on utilise 400 g d'enzyme par tonne de farine dont l'activité est de 120 KNU/g.

55 Le traitement thermique de l'ensemble des protéines dans le pâton favorise la formation d'assemblages de haut poids moléculaire entre les protéines solubles et les protéines insolubles du blé, ce qui conduit à l'insolubilisation globale des protéines. Le traitement thermique permet aussi, par la désorganisation des structures secondaires et tertiaires des protéines, une exposition de nouveaux sites hydrophobes alors repliés vers l'intérieur, ce qui conduit à l'augmentation de l'hydrophobicité de surface des protéines. Comme les températures utilisées pour insolubiliser les protéines sont celles qui correspondent à la gélification de l'amidon, la liquéfaction de l'amidon peut, de ce fait, avoir lieu simultanément. L'α-amylase liquéfie l'amidon, ce qui en dé-

tache les lipides. Or comme, en raison de la température, les protéines sont rendues hydrophobes, elles fixent les lipides libérés de l'amidon, de sorte que l'on obtient un produit lipodprotéique. On peut ainsi insolubiliser avec les protéines environ 50 % en poids de tous les lipides d'une farine de blé. En outre, cette fixation des lipides et la condensation des protéines provoquée par la dénaturation thermique augmentent leur masse spécifique, ce qui permettra ultérieurement de mieux les séparer.

En général, on effectue ce stade de liquéfaction de l'amidon par une  $\alpha$ -amylase pendant 30 minutes à 2 heures.

Un stade suivant, que l'on peut effectuer ou non, consiste à mettre la pâte en contact avec une gluco-amylase (exo  $\alpha$ -amylase) et une pullulonase (enzyme débranchante E.C.3.2.1.41 pullulan-1,6-glucosehydrolase). On pourra utiliser, par exemple, AMG 300L (Novo Nordisk), ou Spezyme GA 300N (Gerencor) ou Dextrozyme 225/75L.

Cette opération facultative a pour but de régler l'équivalent en dextrose du jus sucré qui sera obtenu ultérieurement et qui pourra être valorisé et notamment d'en optimiser les qualités organoleptiques. On peut également mettre la pâte en contact avec une pentosanase telle que Depot 112 (Biocatalyst) ou Visiozyme 120L (Novo Nordisk) en une quantité de 10 à 200 g par tonne de farine, en vue de détruire les pentosanes pour faciliter les stades de purification du jus sucré.

Le stade suivant consiste à diluer la pâte par 0,3 à 1,5 parties en poids d'eau pour 1 partie en poids de pâte, pour obtenir une suspension, afin de faciliter le stade ultérieur de séparation en fonction de la densité des constituants de la suspension en un jus sucré léger et en l'intermédiaire lipodprotéique cherché. Cette séparation peut se faire par décantation, par centrifugation ou par simple filtration, avec possibilité de répéter ces opérations jusqu'à obtention du degré de séparation souhaité.

Le stade suivant du procédé suivant l'invention consiste à soumettre cet intermédiaire lipodprotéique à une protéolyse enzymatique. On utilise une endo-protéase ou un mélange de protéases à activité endo et exo. La quantité utilisée est de 2 grammes à 40 grammes par kilogramme de matière azotée totale mesurée selon la méthode Kjeldahl définie ci-dessus. Ces quantités sont exprimées par une activité de 400 000 ( $\mu$ g tyrosine/g d'enzyme/minute). On pourra utiliser, par exemple, MKC-Protéase L660 (Solvay), Neutrase 0,5L (Novo Nordisk), Alcoolase 2,4L (Novo Nordisk), Protéase acide (Biocon) ou la pepsine, la trypsine, la chymotrypsine.

Grâce à la dénaturation thermique des protéines on peut, par le procédé relativement simple mentionné ci-dessus, extraire une plus grande quantité des protéines présentes dans la farine qu'il n'était possible jusqu'ici, notamment quand on se contentait d'extraire le gluten et l'on extrait également une proportion importante des lipides. Et, cependant, le produit lipodprotéique suivant l'invention, bien qu'obtenu en un plus grand rendement, n'a pas de propriétés allergènes vis-à-vis du veau.

Le produit lipodprotéique suivant l'invention peut ainsi être utilisé comme produit alimentaire. Il peut être utilisé notamment comme additif protéinique en alimentation humaine, mais aussi pour l'alimentation de l'animal, par exemple pour alimenter des mammifères tels que le porc, le cheval, le boeuf, le chien, le chat, le mouton et les poissons. L'invention vise donc également une composition alimentaire qui comprend de 99,9 à 0,01 % en poids d'une base alimentaire et de 0,01 à 99,9 % en poids du produit lipodprotéique suivant l'invention. Le procédé correspondant d'alimentation d'un animal ou de l'homme consiste à donner à manger à l'animal ou à l'homme une composition telle qu'indiquée ci-dessus.

Le produit lipodprotéique suivant l'invention peut être notamment utilisé d'une manière très avantageuse comme substitut de la poudre de lait écrémé pour l'alimentation animale d'animaux non sevrés, notamment de veaux. L'invention vise alors, dans ce cas, une composition alimentaire pour l'animal non sevré qui comprend de 99,9 % à 88 % en poids d'un aliment dérivé du lait et de 0,1 à 12 % en poids du produit lipodprotéique suivant l'invention, le procédé correspondant d'alimentation des animaux non sevrés consistant à administrer cette composition alimentaire auxdits animaux.

De préférence, on additionne la composition de 0,1 à 5 % en poids de lysine, de 0,1 à 5 % en poids de méthionine et/ou de 0,1 à 5 % en poids de thréonine pour pallier leur carence.

Les exemples suivants illustrent l'invention.

#### EXEMPLE 1

Production du produit lipido-protéique et application comme lacto-remplaceur.

Une tonne de farine (variété Thésée) est mélangée avec 1,2 tonnes d'eau chauffée à 50°C. Le pH du milieu est ajusté entre 6,3 et 6,6 avec de la soude. L'enzyme Termamyl 120 L (Novo Nordisk) est ajoutée à la dose de 0,03 % v/p soit 0,3 litre/tonne de matière sèche. Le mélange est énergiquement agité et brassé dans un réacteur de type "pulpeur", la rotation étant fixée à 260 tpm. La température est progressivement augmentée, par injection de vapeur directe, pour atteindre la valeur de 90°C que l'on maintient pendant 60 minutes.

Les mesures de D.E. (équivalent en dextrose) obtenues dans ces conditions se situent autour de 28 à 32 et les mesures de D.X. (équivalent en glucose libre) sont comprises entre 0,8 et 1,3.

Le mélange est ensuite vidangé dans une cuve de saccharification agitée. On ajuste le pH à 5,5 avec de l'acide sulfurique et on règle la température à 55°C. On y verse un mélange de fungamyl 800 L, de dextrozyme (Novo Nordisk) et de Depol 112 (Biocatalyst) dans les proportions en volume de 5/3/2, ce qui représente 0,5 litre de mélange/tonne de matière sèche. Au bout de 30 heures, l'hydrolysate saccharifié est dilué jusqu'à 25 % de matière sèche finale avec de l'eau chauffée à 60°C. L'hydrolysate est décanté sur une décanteuse centrifuge horizontale Guinard (Modèle D1LC20HC). Le débit d'alimentation de la décanteuse est fixé à 400 litres/heure. Le sédiment ou produit intermédiaire lipidoprotéique est suspendu dans deux fois son volume d'eau, puis séparé par décantation.

Cette opération est réalisée deux fois. 200 kg du produit intermédiaire obtenu ci-dessus sont soumis à une protéolyse enzymatique en milieu concentré, sans apport d'eau, en utilisant seulement l'eau constitutive du produit intermédiaire. L'hydrolyse est réalisée dans un réacteur de type pétrin de la marque Guedu. Le produit intermédiaire lipidoprotéique est chauffé à 55°C par injection directe de vapeur et maintenu à cette température par l'intermédiaire d'une double enveloppe. L'enzyme utilisée est l'alcalse 2,4 L (Novo Nordisk). Le pH est ajusté à 8,5 par de la soude concentrée ; 800 ml d'enzyme sont ajoutés. L'hydrolyse est poursuivie pendant 4 heures. on obtient une suspension liquide. La réaction enzymatique est bloquée par passage dans un échangeur à plaques à la température de 90°C. L'hydrolysate obtenu est directement séché sur une tour d'atomisation.

La composition du produit intermédiaire lipidoprotéique comme du produit suivant l'invention est la suivante (exprimée en % de la matière sèche).

|                  |        |
|------------------|--------|
| M.A.T. (N x 5,7  | : 73   |
| Matières grasses | : 12,5 |
| Sucres           | : 3,5  |
| Cendres          | : 5    |
| Fibres totales   | : 5    |

L'aminogramme est le suivant.

| AMINOGRAMME      |                         |                |                         |
|------------------|-------------------------|----------------|-------------------------|
| Acide aminé      | g/100 g d'acides aminés | Acide aminé    | g/100 g d'acides aminés |
| Acide aspartique | 3,5                     | Isoleucine     | 3,9                     |
| Hydroxyproline   | 0                       | Leucine        | 8,0                     |
| Thréonine        | 3,4                     | Tyrosine       | 3,3                     |
| Sérine           | 5,0                     | Phénylalanine  | 6,0                     |
| Acide glutamique | 32,9                    | Acide gamma-   |                         |
| Proline          | 11,3                    | aminobutyrique | 0                       |
| Glycine          | 3,0                     | Tryptophane    | 0,8                     |
| Alanine          | 3,3                     | Ornithine      | 0                       |
| Valine           | 4,9                     | Lysine         | 1,6                     |
| Cystéine         | 1,4                     | Histidine      | 2,2                     |
| Méthionine       | 1,4                     | Arginine       | 3,8                     |

La solubilité de la matière azotée contenue dans le produit suivant l'invention en fonction du pH est constante, et centrée sur la valeur de 73 %, comme le montre le tableau I.

TABLEAU I

| SOLUBILITE ISA EN FONCTION DU<br>pH du produit lipidoprotéique suivant<br>l'invention |    |    |    |      |    |
|---|----|----|----|------|----|
| pH  | 2  | 4  | 6  | 8    | 10 |
| % ISA   | 73 | 72 | 71 | 73,2 | 74 |

Ce produit a fait l'objet d'une étude zootechnique sur 20 veaux afin d'étudier l'influence du remplacement partiel des protéines du lait par celles du blé sur les performances du veau de boucherie entre 50 et 200 kg de poids vif et sur des paramètres de qualité de la viande.

Deux aliments d'allaitement ont été préparés : un aliment-témoin constitué exclusivement de protéines d'origine laitière et un aliment où 22 % de l'apport protéique est constitué par le produit lipidoprotéique suivant l'invention, ce qui représente 7 % de la matière sèche totale de la formulation. On donne au tableau II les compositions respectivement pour le témoin et le produit substitué.

TABLEAU II

COMPOSITION DES ALIMENTS D'ALLAITEMENT  
PREPARES PAR MELANGE A SEC (%)

| Ingrédient                 | Aliment-témoin | Aliment substitué |
|----------------------------|----------------|-------------------|
| Lait écrémé                | 21,8           | 1,0               |
| Lactosérum doux            | 18,7           | 31,8              |
| Lait réengraissé (a)       | 50             | 50                |
| Lactosérum réengraissé (b) | 4,6            | 3,7               |
| Deltavo (c)                | 0,67           | 0,67              |
| Amidon de blé cru          | 2,00           | 2,00              |
| Produit lipidoprotéique    | 0              | 7                 |
| DL méthionine              | 0,2            | 0,16              |
| L. lysine                  | 0,22           | 0,66              |
| Thréonine                  | 0              | 0,10              |
| Carbonate de calcium       | 0,48           | 0,57              |
| Phosphate bicalcique       | 0              | 0,40              |
| CMV (Roche) (d)            | 1,33           | 1,33              |

TABLEAU II (suite)

| Ingrédient   | Aliment-<br>témoin | Aliment<br>substitué |
|--|--------------------|----------------------|
| Analyse  |                    |                      |
| MS   | 96,6               | 96,9                 |
| MAT (N x 6,25)   | 23,3               | 22,1                 |
| MG   | 20,7               | 21,3                 |
| Cendres  | 7,5                | 7                    |
| Energie brute (Kcal/g)   | 4973               | 5035                 |
| (a) Contenant 37 % de lipides (32 % de suif et 5 % d'huile de coprah). |                    |                      |
| (b) Contenant environ 40 % de suif.                                    |                    |                      |
| (c) (CCPA) Contenant des maltodextrines et des émulsifiants.           |                    |                      |
| (d) (Roche) Contenant des sels minéraux et des vitamines.              |                    |                      |

Les résultats obtenus sont résumés aux tableaux III et IV. L'indice de consommation est la quantité en kg d'aliment ingérée pour obtenir un gain de poids de 1 kg. L'hématocrite est un indice d'anémie de l'animal qui est d'autant moins anémié que l'indice est élevé.

TABLEAU III - RESULTATS D'EXPERIMENTATION  
(Lot-témoin)

| Période<br>(en jours)          | 1 J              | 15 J             | 29 J             | 43 J             | 57 J             | 71 J              | 85 J              | 99 J              | 113 J             | 127 J             |
|--------------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Poids                          | 49,200<br>±5,090 | 54,600<br>±4,950 | 64,500<br>±4,060 | 82,900<br>±4,950 | 98,300<br>±4,500 | 116,600<br>±5,040 | 134,000<br>±6,430 | 153,000<br>±6,240 | 172,300<br>±7,540 | 190,300<br>±9,570 |
| Consom-<br>mation              |                  | 6,920<br>±0,000  | 10,530<br>±0,000 | 21,390<br>±1,160 | 24,210<br>±0,600 | 28,610<br>±0,250  | 32,220<br>±1,030  | 35,410<br>±0,660  | 36,770<br>±2,540  | 38,490<br>±1,850  |
| Gain de<br>poids               |                  | 5,400<br>±1,350  | 9,900<br>±1,290  | 18,400<br>±2,720 | 15,400<br>±1,650 | 18,300<br>±1,700  | 17,800<br>±3,490  | 18,600<br>±2,550  | 19,300<br>±2,110  | 18,00<br>±2,980   |
| Indice de<br>consom-<br>mation |                  | 1,36<br>±0,34    | 1,08<br>±0,15    | 1,18<br>±0,14    | 1,59<br>±0,18    | 1,58<br>±0,15     | 1,88<br>±0,37     | 1,93<br>±0,23     | 1,92<br>±0,14     | 2,20<br>±0,42     |
| Hématocrite                    | 34,0<br>±6,3     | 34,2<br>±7,6     | 30,7<br>±5,5     | 24,2<br>±5,4     | 20,2<br>±4,2     | 21,9<br>±2,6      | 22,6<br>±1,8      | 22,1<br>±2,3      | 20,7<br>±2,4      | 18,9<br>±1,1      |



TABLEAU IV - RESULTATS D'EXPERIMENTATION  
(Suivant l'invention)

| Période<br>(en jours)          | 1 J              | 15 J             | 29 J             | 43 J             | 57 J             | 71 J              | 85 J              | 99 J               | 113 J              | 127 J              |
|--------------------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------|-------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| Poids                          | 49,600<br>±4,430 | 54,700<br>±5,330 | 64,400<br>±4,060 | 81,600<br>±4,530 | 96,900<br>±4,120 | 114,100<br>±6,450 | 131,900<br>±8,970 | 149,300<br>±14,330 | 166,000<br>±19,720 | 183,800<br>±21,260 |
| Consom-<br>mation              |                  | 6,890<br>±0,110  | 10,300<br>±0,430 | 21,000<br>±1,170 | 23,730<br>±1,030 | 27,050<br>±2,980  | 31,410<br>±3,210  | 33,740<br>±4,610   | 34,550<br>±6,510   | 37,870<br>±3,780   |
| Gain de<br>poids               |                  | 5,100<br>±2,080  | 9,700<br>±1,770  | 17,200<br>±2,300 | 15,300<br>±2,000 | 17,200<br>±4,520  | 17,800<br>±3,680  | 17,400<br>±6,040   | 16,700<br>±6,130   | 17,80<br>±2,200    |
| Indice de<br>consom-<br>mation |                  | 1,61<br>±0,80    | 1,09<br>±0,19    | 1,24<br>±0,15    | 1,57<br>±0,21    | 1,69<br>±0,58     | 1,81<br>±0,28     | 2,30<br>±1,33      | 2,29<br>±0,69      | 2,14<br>±0,18      |
| Hématocrite                    | 33,8<br>±7,8     | 33,3<br>±7,8     | 32,8<br>±5,6     | 26,3<br>±5,9     | 22,6<br>±3,8     | 26,6<br>±4,4      | 26,1<br>±4,3      | 25,5<br>±3,7       | 23,2<br>±4,2       | 22,8<br>±4,0       |

## EXEMPLE 2

## FORMULATION DU PRODUIT LIPIDOPROTEIQUE EN TANT QU'INGREDIENT ALIMENTAIRE POUR L'ALIMENTATION HUMAINE

5

10

15

20

25

30

| Préparation d'une génoise : ingrédients. |                 |                                 |
|--|-----------------|---------------------------------|
|  | Témoin-génoise  | Génoise suivant l'invention     |
|  | 125 g de farine | 125 g de farine                 |
|  | 125 g de farine | 125 g de sucre                  |
|  | 4 oeufs         | 3 oeufs                         |
|  |                 | 15 g de produit lipidoprotéique |
|  |                 | 100 g d'H <sub>2</sub> O        |
| MST                                      | 474             | 430                             |
| Humidité                                 | 576             | 515                             |
|  |                 | (dont 100 g d'H <sub>2</sub> O) |
| Matières grasses                         | 123             | 94                              |
| Matières protéiques                      | 123-126         | 110                             |
| Sucres/amidon                            | 225             | 226                             |
| % MS                                     | 45,1            | 45,5                            |
| % MG                                     | 25,9            | 21,9                            |
| % MAT                                    | 26,6            | 25,6                            |
| Amidon/sucre                             | 47,5            | 52,6                            |

35

La substitution du quart des oeufs par 15 g du produit lipidoprotéique dont la composition est équivalente à celle de l'exemple 1 permet d'obtenir des génoises moins friables, donc se prêtant mieux à la découpe que la génoise traditionnelle. Le goût et la texture ne sont pas modifiés significativement.

40

45

50

55

**Préparation d'une bavaroise : substitution des matières grasses (chantilly).**

|    |                             |      |     |                |     |                   |       |
|----|-----------------------------|------|-----|----------------|-----|-------------------|-------|
| 5  | Formule classique (1)       | MST  | HUM | Protéi-<br>nes | MG  | Sucres/<br>amidon | Kcal  |
| 10 | 30g mix "bavaroise"         | 27   | 3   | 6              | 3   | 21                | 135   |
|    | 46g H <sub>2</sub> O        |      | 46  |                |     |                   |       |
|    | 150g Chantilly              | 31   | 119 | 6              | 23  | 2                 | 239   |
| 15 | 30g sucre                   | 28   | 2   |                |     | 28                | 112   |
|    | Total                       | 86   | 170 | 12             | 26  | 51                | 486   |
| 20 | Formule allégée (2)         |      |     |                |     |                   |       |
|    | 30g mix "bavaroise"         | 27   | 3   | 6              | 3   | 21                | 135   |
| 25 | 155g H <sub>2</sub> O       |      | 155 |                |     |                   |       |
|    | 26g sucre                   | 24,7 | 2,3 |                |     | 24,7              | 98,8  |
| 30 | 14g produit lipidoprotéique | 13,3 | 0,7 | 9,7            | 1,3 |                   | 50,5  |
|    | 10g malto-dextrine          | 9,5  | 0,5 |                |     | 9,5               | 4,5   |
| 35 | 10g lait écrémé             | 9,5  | 0,5 | 3,2            | 0,5 | 6,3               | 42,5  |
|    | 0,7g xanthane               | 0,7  |     |                |     |                   |       |
|    | Total                       | 84,7 | 162 | 18,9           | 4,8 | 61,5              | 331,3 |

(1) 33,6 % MST finale  
565 Kcal/100 g MST

(2) 34,3 % MST finale  
392 Kcal/100 g MST.

**Revendications**

- Produit lipidoprotéique comprenant, sur la matière sèche, de 70 à 75 % en poids de matières azotées totales, de 10 à 15 % en poids de lipides, de 4 à 7 % en poids de fibres, de 2 à 5 % en poids de sucres et de 3 à 5 % en poids de cendres, ayant une teneur en glutamine, exprimée en acide glutamique, représentant de 30 à 35 du poids de tous les acides aminés, et ayant une solubilité ISA d'au moins 60 % et d'au plus 95 % et qui est constante, quel que soit le pH.
- Procédé de préparation d'un produit lipidoprotéique, caractérisé en ce qu'il consiste à mettre un intermédiaire lipidoprotéique ayant une teneur en glutamine, exprimée en acide glutamique représentant de 30

à 35 % du poids de tous les acides aminés, et répondant à l'analyse suivante : de 70 à 75 % en poids de matières azotées totales, de 8 à 15 % en poids de lipides, de 3 à 7 % en poids de fibres, de 2 à 5 % en poids de sucres et de 3 à 7 % en poids de cendres, en contact avec une protéase.

- 5 3. Procédé suivant la revendication 2, caractérisé en ce que l'intermédiaire lipidoprotéique est obtenu en mélangeant de 0,8 à 10 parties en poids d'eau à 8 parties en poids de farine, jusqu'à obtention d'un pâton, en ajoutant au pâton une  $\alpha$ -amylase en une quantité de 300 à 500 g par tonne de farine, tout en portant le pâton additionné de l' $\alpha$ -amylase à une température d'au moins 60°C et d'au plus 110°C pendant au moins 30 minutes, pour obtenir une pâte, en diluant la pâte par 0,3 à 1,5 parties en poids d'eau pour 1  
10 partie en poids de pâte, pour obtenir une suspension et en séparant, par une opération de séparation en fonction de la densité, les constituants de la suspension en un jus sucré léger et en l'intermédiaire lipidoprotéique cherché.
4. Procédé suivant la revendication 3, caractérisé en ce qu'il consiste à mettre la pâte en contact avec une  
15 glucoamylase en une quantité de 50 à 300 grammes par tonne de farine.
5. Procédé suivant la revendication 4, caractérisé en ce qu'il consiste à mettre la pâte en contact avec une pentosanase en une quantité de 10 à 200 grammes par tonne de farine.
- 20 6. Procédé suivant l'une des revendications 2 à 5, caractérisé en ce qu'il consiste à mettre l'intermédiaire lipidoprotéique en contact avec 2 à 40 grammes, par kilogramme de matière azotée totale de l'intermédiaire lipidoprotéique, de protéase.
7. Procédé suivant l'une des revendications 2 à 6, caractérisé en ce que la protéase est la pepsine, l'alcalase, la neutrase, la trypsine, la chymotrypsine ou la protéase acide.  
25
8. L'utilisation du produit lipidoprotéique suivant la revendication 1 comme aliment pour l'animal ou comme additif protéinique en alimentation humaine.
9. L'utilisation du produit lipidoprotéique suivant la revendication 1 comme substitut de la poudre de lait écrémé pour l'alimentation des animaux non sevrés, notamment des veaux.  
30
10. Composition alimentaire pour l'animal non sevré, notamment pour les veaux, qui comprend de 99,9 % à 88 % en poids d'un aliment dérivé du lait, caractérisée en ce qu'elle comprend de 0,1 à 12 % en poids du produit lipidoprotéique suivant la revendication 1 et, de préférence, de 0,1 à 5 % en poids de lysine, de 0,1 à 5 % en poids de méthionine et/ou de 0,1 à 5 % en poids de thréonine.  
35



Office européen  
des brevets

# RAPPORT DE RECHERCHE EUROPEENNE

Numero de la demande

EP 92 40 2215

| DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS   |  |   |  |
|---|--|---|--|
| Catégorie   | Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes  | Revendication concernée                               | CLASSEMENT DE LA DEMANDE (Int. Cl.5)       |
| D,A   | CA-A-1 146 800 (J. LABATT LTD)<br>* revendications *   | 1-3,8   | A23J3/18<br>A23L1/105<br>A23J1/12          |
| A   | GB-A-1 442 149 (NISSIN SHOKUHN KAISHA LTD)<br>* revendications *<br>* exemple 1 *  | 1-3   |  |
| A   | GB-A-2 066 043 (THE BOOTS COMPANY LTD)<br>* exemples 1-3 *   | 8-10  |  |
| A   | DATABASE WPIL<br>Section Ch, Week 8537, 1985<br>Derwent Publications Ltd., London, GB;<br>Class D13, AN 85-227643<br>& JP-A-60 149 351 (NISHIN FLOUR MILL KK) 6<br>Août 1985<br>* abrégé * | 1-3   |  |
| A   | EP-A-0 407 981 (BRISTOL-MYERS SQUIBB CO.)<br>* revendications *  | 1-3   |  |
| Le présent rapport a été établi pour toutes les revendications  |  |   | DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int. Cl.5) |
|   |  |   | A23J<br>A23L                               |
| Lieu de la recherche<br>LA HAYE   |  | Date d'achèvement de la recherche<br>24 NOVEMBRE 1992 | Examinateur<br>VUILLAMY V.M.L.             |
| <p><b>CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES</b></p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul<br/>Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie<br/>A : arrière-plan technologique<br/>O : divulgation non-écrite<br/>P : document intercalaire</p> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention<br/>E : document de brevet antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date<br/>D : cité dans la demande<br/>L : cité pour d'autres raisons<br/>&amp; : membre de la même famille, document correspondant</p> |  |   |  |

EPO FORM 1503 03.82 (P0402)

Lipoprotein containing product derived from wheat flour, process to prepare it, and applications thereof.

Publication number:EP0533512  
Publication date:1993-03-24  
Inventor:PERNES-COSTA SYLVIE RESIDENCE (FR);  
THOUMY VERONIQUE (FR); PAUWELS OLIVIER (FR); DE  
BAYNAST REGIS (FR)  
Applicant:ARD SA (FR)  
Classification:  
- international:A23J1/12; A23J3/18; A23L1/105;  
A23J1/00; A23J3/00; A23L1/105; (IPC1-7): A23J1/12;  
A23J3/18; A23L1/105  
- European:A23J1/12B; A23J3/18; A23L1/105B  
Application number:EP19920402215 19920803  
Priority number(s):FR19910011368 19910916

Also published as:

FR2681219 (A1)

Cited documents:

CA1146800  
GB1442149  
GB2066043  
EP0407981  
JP60149351

Abstract of EP0533512

It comprises, on the dry matter, from 70 to 75% by weight of total nitrogenous matter, from 10 to 15% by weight of lipids, from 4 to 7% by weight of fibre, from 2 to 5% by weight of sugars and from 3 to 5% by weight of ash, with a glutamine content, expressed as glutamic acid, representing from 30 to 35% by weight of all the amino acids, and with an ISA solubility of at least 60% and at most 95% and which is constant regardless of the pH. Food industry.

## Description of EP0533512

The present invention refers to the derived products flour of corn, with their methods of preparation and with their applications.

A great number of varieties of corn, high-output, are not suitable for making bread. One simply uses them like food of the cattle.

With the Canadian patent 1.146.800, one proposes to develop there flour, in particular of corn unsuitable for making bread, by a process who consists in mixing water and flour for to form a lump, to subject it to the action of alpha - amylase, which liquifies the starch of it so as to to facilitate the later separation of what this patent Canadian names " gluten " of a sugar syrup.

The invention aims at a product lipidoproteic derived from flour of corn, which can be used as ingredient food in particular allowing to reduce the products and like substitute of the dried milk skimmed for animal feeds, in particular for the animals not separated to fatten, whereas products of origin cereal were absolutely unsuitable up to now with one such use.

The invention thus has as an aim a product lipidoproteic including/understanding, on the dry matter, from 70 to 75 % in weight total nitrogenized matters, from 8 to 15 % in weight of lipids, from 3 to 7 % in weight of fibres, 2 to 5 % in weight of sugars and 3 to 7 % in weight of ashes, having a content of glutamine, expressed in glutamic acid, representative from 25 to 35 % of the weight of all the acids amino and having a solubility ISA of at least 50 % and of with more 95 %, this solubility ISA being constant, whatever the pH knows.

By total nitrogenized matters, one understands the matters nitrogenized such as they are determined by the test of Kjeldahl, with NR = 5,7.

One determines the lipids, according to the invention, while proportioning fat content extracted by using one Soxhlet extractor in the presence of hexane (5 G of product for 250 ml of hexane) by maintaining a boiling under backward flow during 6 hours. After evaporation of hexane, one defines the lipid level by the relationship between

weight of the dry extract and the matter weight dries total.

The fibres are determined by the method Fiberzim Kit of at Novo Nordisk following:

One carries out a crushing of the product first of all, such as the particles obtained are of size lower than 5

Misters One also carries out the drying of the particles.

In each filter crucible, to put a homogeneous layer of Célite 545 of approximately 8 Misters Placer crucibles one harms 105 DEG C to let cool with the dessicator, then to weigh.

To weigh exactly approximately 1 G (product free from fat content), in a erlenmeyer of 250 ml. To add 50 ml of buffer phosphate. To agitate. To cover the erlenmeyer with an aluminium foil (to preserve this sheet throughout the experiment). To leave the erlenmeyer to bain-marie agitated with 100 Degree c during 15 minutes.

To add 50 driven L of alpha - amylase. To place the erlenmeyer with the bain-marie agitated with 100 Degree c during 15 minutes then rethermostater the erlenmeyer with 60 Degree c during 15 minutes.

To adjust the pH with 7,5 with NaOH 0,275 NR.

Rethermostater the erlenmeyer with 60 Degree c during 15 minutes and to add 50 driven L of protease.

To place at the bain-marie agitated at 60 Degree c during 40 minutes.

To adjust the pH with 4,5 with HCl 0,322 NR Then rethermostater the erlenmeyer with 60 Degree c during 15 minutes.

To add 150 driven L of amyloglucosidase. To place at bain-marie agitated with 60 Degree c during 40 minutes.

To preheat alcohol to 95 % with 60 Degree c, and to add this alcohol until a volume of 200 ml in the erlenmeyer. Then to let precipitate fibres with ambient temperature during 40 minutes.

To place the filter crucible on a liquid jet vacuum pump and to rinse Célite 545 with alcohol to 78 % in way that Célite forms a bed sticking to surface crucible. To filter vacuum.



To wash the residue three times with 20 ml of ethanol to 78 %, twice with 10 ml of ethanol to 95 % and twice with 10 ml of acetone.

To dry the crucible containing the sample, during one 105 Degree c harms.

To cool with the dessicator and to weigh.

One obtains the total fibre weight thus, plus ashes, plus the total nitrogenized matter: total weight.

One thus carries out the dosage of ashes and the matter nitrogenized total.

$\% F = MT \ \% NR + \% C \text{ DIVIDED } 100 * MT - B \text{ DIVIDED } m * 100$

$\% F$ : Percentage of total fibres

$\% NR$ : Percentage of nitrogenized matters

$\% C$ : Percentage of ashes

MT: Total weight

m: Mass sample

B: Percentage of fibres of a white.

The ponderal content of sugars is given in carrying out the following test. 5 G of the product to be proportioned are

solubilized hot in 250 ml of water. The mixture is filtered on a filter millipore 0,45 driven m then refiltré on 0,2 driven Mr. a sample of 40 driven L is injected on a column calcium HP87C (Biorad) on a system HPLC Toilets 410 (refractometer). Flow of the solvent (H<sub>2</sub>O.) is of 0,5 ml/minute to 85 DEG C the preliminary calibration allows the qualitative and quantitative analysis sugars.

Content of glutamine and that of the other amino acids is given in the following way.

500 Mg of the sample to be analyzed are subjected to one total acid hydrolysis (HCl N-110 Degree c during 24 to 48 hours). In order not to destroy methionine and there cystéine, the product will be before the hydrolysis subjected to a performic oxidation which transforms there cystic cysteine in acid and methionine in methionine sulfone.

The hydrolysate is filtered on a driven filter millipore 0,2 Mr. aliquot of the filtrate (100 to 200 driven L) is diluted in a buffer, then analyzed by the automatic analyzer Beckmann.

Solubility ISA (NSI, is Nitrogen Soluble index) is

determined in accordance with the standard A.O.C.S., Official Method Ba 11-65.

5 G of sample in 200 ml of H<sub>2</sub>O (30 Degree c) are dispersed under agitation. One centrifuges during 10 minutes under 1500 towers at the minute. One elutriates and one preserve the supernatant which one filters through the blade of glass and one proportions the total matter nitrogenized of surviving.

% ISA = % nitrogenizes water soluble DIVIDED % nitrogenizes total

It is an indication of solubility and of digestibility in aqueous medium.

The method of preparation produces lipidoproteic, according to the invention, consists in putting an intermediate lipidoproteic having a content of glutamine, expressed in glutamic acid representing from 25 to 35 % of the weight of all the amino acids, which means that this intermediate lipidoproteic comes from the flour from corn, and answering the following analysis: from 70 to 75 % in weight of total nitrogenized matters, 8 to 15 % in weight lipids, from 3 to 7 % in weight of fibres, 2 to 5 % in weight of sugars and 3 to 7 % in weight of ashes, in contact with a protease.

This process can be carried out mans contribution of water, that it is not necessary any more to evaporate during atomization.

The complete process of obtaining the product lipidoproteic according to the invention, from there flour of corn, can include/understand the following stages: The first stage consists in mixing from 0,8 to 10 parts in water weight with 1 part in weight of flour, until obtaining a lump.

In general, the flour has a granulometry of 180 driven m, although one can use finer flours, going for example up to 150 driven m or even 100 driven m, and also coarser flours, going by example up to 300 driven m, granulometry not being determining as of the moment that a lump is formed by mix with water. One obtains a lump in less in general from 10 minutes, under vigorous agitation, as it is usual to form a lump in the manufacture of bread. The flour used can be a flour suitable for making bread but, in a very advantageous way according to the invention, it can be also a flour not suitable for making bread. One can carry out the mixture at the temperature ambient but, in an advantageous way, one prefers

to mix the flour with water brought up to a temperature from 40 to 90 Degree c and in particular from 50 to 60 Degree c, for to return liked economic a later stage of heating. One advantageously carries out the mixture in a pulpor of paper mill provided with powerful means of agitation.

As of obtaining the lump, one adds to the contents of the pulpor alpha - amylase, while carrying the added lump alpha - amylase at a temperature of at least 60 DEG C and of to the more 110 Degree c, during at least 30 minutes, addition of alpha - amylase being practised instantaneous. Like alpha - amylase, one can use in particular:

Termanyl 120L (120 KNU/g) of Novo Nordisk or Round of applause 120L KNU/g de Novo Nordisk or Canolpha 180L 180 000 U/ml of Biocon or Fungomyl/800L (800 Fau/g) of Novo Nordisk. KNU = Kilo Unit Novo alpha-amylase  
Quantity of enzyme which degrades 5,25 G of starch per hour, according to the standard method Novo.

One uses a quantity of alpha - amylase of 300 grams with 500 grams per ton of flour, these quantities being expressed for an activity of alpha - amylase of 100 KU/g. One regulates the pH and the temperature according to optimum conditions for activity of the enzymes. It is thus, for example, that for the termanyl/120L (Nova Nordisk) one uses 400 G of enzyme per ton of flour whose activity is 120 KNU/g.

Heat treatment of the whole of proteins in the lump supports the formation of assemblies top molecular weight enters the soluble proteins and them insoluble proteins of corn, which leads to the total insolubilisation of proteins. Treatment thermics also allows, by the disorganization of secondary and tertiary structures of proteins, one exposure of new hydrophobic sites then folded up towards the interior, which leads to the increase in hydrophobicity of surface of proteins. Like temperatures used to render insoluble proteins are those which correspond to the gelatinization of the starch, the liquefaction of the starch can, so to take place simultaneously. Alpha - amylase liquifies starch, which detaches the lipids from them. However like, in reason of the temperature, the proteins are returned hydrophobic subjects, they fix the lipids released from starch, so that a product is obtained lipidoproteic. One can thus render insoluble with proteins approximately 50 % in weight of all the lipids of a flour of corn. Moreover, this fixing of lipids and the condensation of proteins caused by

the thermal denaturation increase their mass specific, which will allow later on best them to separate.

In general, one carries out this stage of liquefaction of starch by an alpha-amylase during 30 minutes with 2 hours.

A following stage, that one can carry out or not, consist in putting the paste in contact with one gluco-amylase (exo alpha-amylase) and a pullulonase (disconnecting enzyme E.C.3.2.1.41 pullulan-1,6-glucosehydrolase). One will be able to use, by example, AMG 300L (Novo Nordisk), or Spezyme GA 300N (Gerencor) or Dextrozyme 225/75L.

The purpose of this optional operation is to regulate the equivalent out of dextrose of the sweetened juice which will be obtained later on and which could be developed and in particular to optimize organoleptic qualities of them. One can also to put the paste in contact with a pentosanase such as Deposit 112 (Biocatalyst) or Visiozyme 120L (Novo Nordisk) in a quantity from 10 to 200 G per ton of flour, in order to destroy the pentosanes for to facilitate the stages of purification of the sweetened juice.

The following stage consists in diluting the paste by 0,3 to 1,5 parts in weight of water for 1 part in weight of paste, to obtain a suspension, in order to facilitate the stage later of separation according to the density of components of the suspension in a light sweetened juice and in the sought intermediate lipidoproteic. This separation can be done by decantation, by centrifugation or by simple filtration, with possibility of repeating these operations until obtaining degree of separation wished.

The stage following of the process according to the invention consists to subject this intermediate lipidoproteic to one enzymatic proteolysis. One uses a endo-protease or a mixture of proteases with endo activity and exo. There quantity used is 2 grams to 40 grams by kilogramme of total nitrogenized matter measured according to there Kjeldahl method defined above. These quantities are expressed by an activity of 400 000 (driven G tyrosine/g of enzyme/minute). One will be able to use, for example, MKC-Protease L660 (Solvay), Neutrase 0,5l (Novo Nordisk), Alcoolase 2,4L (Novo Nordisk), acid Protease (Biocon) or pepsin, trypsin, the chymotrypsine.

Thanks to the thermal denaturation of proteins one can,

by the relatively simple process mentioned above, to extract a greater quantity from proteins present in the flour which it was not possible up to now, in particular when one was satisfied to extract the gluten and one also extract a proportion significant of the lipids. And, however, the product lipidoproteic according to the invention, although obtained in a greater output, does not have properties allergens with respect to calf.

The product lipidoproteic following the invention can thus to be used as foodstuff. It can to be used in particular like additive proteinic in human consumption, but also for the food of the animal, for example to feed from the mammals such that the pig, the horse, the ox, the dog, the cat, it sheep and fish. The invention thus aims also a food composition which includes/understands from 99,9 to 0,01 % in weight of a food base and 0,01 to 99,9 % in weight of the product lipidoproteic following the invention. process corresponding of food of an animal or of the man consists in giving to eat with the animal or with the man a composition as indicated above.

The product lipidoproteic following the invention can be in particular used in a very advantageous way like substitute of the dried milk skimmed for animal feeds of not separated animals, in particular calves. The invention then aims, in this case, one food composition for the animal not separated which includes/understands of 99,9 % to 88 % in weight of a derived food milk and from 0,1 to 12 % in weight of the product lipidoproteic according to the invention, the process correspondent of food of the not separated animals consisting in managing this food composition with the known as animals.

Preferably, one adds the composition with 0,1 to 5 % in weight of lysin, 0,1 to 5 % in methionine weight and/or from 0,1 to 5 % in weight of thréonine to mitigate their deficiency.

The following examples illustrate the invention.

#### EXAMPLE 1

Production of the lipido-proteinic product and application as lacto-remplacor.

A ton of flour (Thésée variety) is mixed with 1,2 tons of water heated to 50 DEG C the pH of the medium is adjusted between 6,3 and 6,6 with soda. The enzyme Termamyl 120 L (Novo Nordisk) is added to the amount of 0,03 % v/p are 0,3 dry matter litre/tonne. mixture vigorously is agitated and brewed in one engine of the type " pulpor ", rotation being fixed at 260 tpm. The temperature is gradually increased, by direct vapor injection, to reach there value of 90 Degree c which one maintains during 60 minutes.

Measurements of D.E. (equivalent out of dextrose) obtained under these conditions are located around 28 to 32 and them measurements of D.X. (equivalent in free glucose) are ranging between 0,8 and 1,3.

The mixture is then drained in a tank of agitated saccharification. One adjusts the pH with 5,5 with the sulphuric acid and one regulate the temperature to 55 DEG C One pours a mixture of fungamyl there 800 L, of dextrozyme (Novo Nordisk) and of Depol 112 (Biocatalyst) in the proportions in volume of 5/3/2, which account for 0,5 liter of dry matter mélange/tonne. At the end of 30 hours, the saccharified hydrolysate is diluted up to 25 % of matter dries final with water heated to 60 DEG C the hydrolysate is elutriated on one horizontal centrifugal decanting machine Guinard (Model D1LC20HC). The rate of feed of the decanting machine is fixed at 400 litres/heure. The sediment or product intermediate lipidoproteic is suspended in two time its volume of water, then separated by decantation.

This operation is carried out twice. 200 kg of intermediate product obtained above are subjected to one enzymatic proteolysis in concentrated medium, without contribution of water, by using only water constitutive of intermediate product. The hydrolysis is carried out in one engine of the kneader type of the Guedu mark. The product intermediate lipidoproteic is heated to 55 Degree c by direct injection of vapor and maintained with this temperature by means of a double envelope. The enzyme used is the alcalase 2,4 L (Novo Nordisk). The pH is adjusted to 8,5 by concentrated soda; 800 ml of enzyme are added. The hydrolysis is continued during 4 hours. a liquid suspension is obtained. There enzymatic reaction is blocked by passage in one exchanger with plates at the temperature of 90 Degree c. The hydrolysate obtained is directly dried on a lathe

of atomization.

The composition of the intermediate product lipidoproteic as product following the invention is as follows (expressed in % of the matter dries).

M.A.T. (NR X 5,7: 73  
Fat content: 12,5  
Sugars: 3,5  
Ashes: 5  
Total fibres: 5

The solubility of the nitrogenized matter contained in produced according to the invention according to the pH is constant, and centered on the value of 73 %, like show table I.

This product was the subject of a zootechnical study on 20 calves in order to studied the influence of the replacement partial of proteins of milk by those of corn on performances of calf of butchery between 50 and 200 kg of live weight and on parameters of quality of the meat.

Two milk feeds were prepared: one food-witness made up exclusively of proteins of dairy origin and a food where 22 % of the contribution proteinic is consisted the product lipidoproteic according to the invention, which represents 7 % of the matter dry total of the formulation. One gives to table II compositions respectively for the witness and it substituted product. EMI12.1 EMI13.1

The results obtained are summarized in tables III and IV. The index of consumption is the quantity in kg of food introduced to obtain a profit of weight of 1 kg. The hématocrite is an indication of anaemia of the animal which is of as much less weakened than the index is high. EMI14.1 EMI15.1

## EXAMPLE 2

PRODUCT FORMULATION LIPIDOPROTEIQUE IN SO MUCH  
THAT FOOD INGREDIENT FOR THE HUMAN CONSUMPTION

The substitution of the quarter of eggs by 15 G of the product lipidoproteic whose composition is equivalent to that of example 1 makes it possible to obtain gâteaux less friable, therefore lending itself better to cutting than there gâteau traditional. The taste and texture are not not modified significantly. EMI17.1

Claims of EP0533512

1. Product lipidoproteic including/understanding, on the matter dry, from 70 to 75 % in nitrogenized matter weight total, from 10 to 15 % in weight of lipids, 4 to 7 % in weight of fibres, 2 to 5 % in weight of sugars and 3 with 5 % in weight of ashes, having a content of glutamine, expressed in glutamic acid, representative from 30 to 35 of weight of all the amino acids, and having a solubility ISA of at least 60 % and of with more 95 % and which is constant, whatever the pH.
2. Method of preparation of a product lipidoproteic, characterized in that it consists in putting one intermediate lipidoproteic having a content of glutamine, expressed in glutamic acid representing of 30 to 35 % of the weight of all the amino acids, and answering the following analysis: from 70 to 75 % in weight total nitrogenized matters, from 8 to 15 % in weight of lipids, from 3 to 7 % in weight of fibres, 2 to 5 % in weight of sugars and 3 to 7 % in weight of ashes, in contact with a protease.
3. Process following claim 2, characterized in it that the intermediate lipidoproteic is obtained in mixing from 0,8 to 10 parts in weight of water with 8 parts in weight of flour, until obtaining one lump, by adding to the lump alpha - amylase in one quantity from 300 to 500 G per ton of flour, all in carrying the lump added with alpha - amylase to one temperature from at least 60 Degree c and of with the more 110 Degree c during at least 30 minutes, to obtain a paste, in diluting the paste by 0,3 to 1,5 parts in weight of water for 1 part in weight of paste, to obtain one suspension and while separating, by an operation of separation according to the density, the components



suspension in a light juice sweetened and in the sought intermediate lipidoproteic.

4. Process following claim 3, characterized in it that it consists in putting the paste in contact with one glucoamylase in a quantity from 50 to 300 grams by thunder of flour.

5. Process following claim 4, characterized in it that it consists in putting the paste in contact with one pentosanase in a quantity from 10 to 200 grams by thunder of flour.

6. Process following one of claims 2 to 5, characterized in that it consists in putting the intermediate lipidoproteic in contact with 2 to 40 grams, by kilogramme of total matter nitrogenized of the intermediate lipidoproteic, of protease.

7. Process following one of claims 2 to 6, characterized in that the protease is pepsin, the alcalase, the neutrase, trypsin, the chymotrypsine or the acid protease.

8. The lipidoproteic use of the product following there claim 1 like food for the animal or like additive proteinic in human consumption.

9. The lipidoproteic use of the product following there claim 1 like substitute of the dried milk skimmed for the food of the not separated animals, in particular calves.

10. Food composition for the animal not separated, in particular for the calves, which includes/understands of 99,9 % to 88 % in weight of a food derived from milk, characterized in it that it includes/understands from 0,1 to 12 % in weight of the product lipidoproteic according to claim 1 and, of preference, from 0,1 to 5 % in weight of lysin, 0,1 to 5 % in weight of methionine and/or 0,1 to 5 % in weight of thréonine.